

AK

⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑪ DE 3619107 A1

⑤ Int. Cl. 4:
G01N 21/03

⑳ Aktenzeichen: P 36 19 107.8
㉑ Anmeldetag: 6. 6. 86
㉒ Offenlegungstag: 8. 1. 87

8

Behördenstempel

DE 3619107 A1

③① Unionspriorität: ③② ③③ ③①
01.07.85 DD WP G 01 N/278 057 3

⑦① Anmelder:
Jenoptik Jena GmbH, DDR 6900 Jena, DD

⑦② Erfinder:
Schiek, Oswald, DDR 6900 Jena, DD; Horn, Anton,
Dr., DDR 6900 Jena-Wöllnitz, DD; Volke, Joachim,
DDR 6901 Neuengönna, DD

⑤④ Probenkörper zur diskreten Analyse flüssiger Analysenansätze

Bei einem Probenträger zur diskreten Analyse flüssiger Analysenansätze mit dem Ziel der Erhöhung der Meßgenauigkeit und der Anwendungsbreite photometrischer Methoden besteht die Aufgabe, einen zugleich als Meßküvette einsetzbaren Probenträger zu entwickeln, der für alle in ihm befindlichen Proben übereinstimmende Schichtdicken gewährleistet, der temperierbar und leicht zu reinigen ist. Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß ein Hohlräume enthaltender zentraler Körper an seiner Grundfläche durch einen unteren und an seiner Deckfläche durch einen oberen Abschlußkörper begrenzt ist und daß die Abschlußkörper jeweils in gemeinsamen Ebenen liegende Flächenbereiche aufweisen, die sich zumindest in der Nähe von Grund- oder Deckfläche befinden.

DE 3619107 A1

Patentansprüche

1. Probenträger zur diskreten Analyse flüssiger Analysenansätze in gleichgestalteten, an einem Ende verschlossenen und in definierter Anordnung vorgesehenen Hohlräumen, die zueinander parallel verlaufende Begrenzungsebenen aufweisen, gekennzeichnet dadurch, daß ein die Hohlräume enthaltender zentraler Körper, dessen Grund- und Deckfläche die Begrenzungsebenen der Hohlräume bilden, an der Grundfläche durch einen unteren und an der Deckfläche durch einen oberen Abschlußkörper begrenzt ist, daß in den oberen Abschlußkörper an der dem zentralen Körper zugewendeten Seite Vertiefungen eingearbeitet sind, die in einer gemeinsamen Ebene liegende, aus optisch durchlässigem Material bestehende Flächenbereiche umgrenzen, deren Zahl und Anordnung der der Hohlräume entspricht und die diese zumindest teilweise überdecken, daß der untere Abschlußkörper die Hohlräume verschließende, in einer gemeinsamen Ebene liegende Flächenelemente aufweist, und daß sich die gemeinsamen Ebenen parallel zur Grund- und Deckfläche zumindest in der Nähe der ihnen zugeordneten Flächen befinden.
2. Probenträger nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß die durch die Vertiefungen umgrenzten Bereiche durch Abstandshalter zwischen dem zentralen Körper und dem oberen Abschlußkörper die in den Hohlräumen befindlichen Analysenansätze so berühren, daß die Analysenansätze in dem zwischen dem zentralen Körper und dem oberen Abschlußkörper befindlichen Teil seitlich nur durch Luft begrenzt sind.
3. Probenträger nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß die durch die Vertiefungen umgrenzten Bereiche Zapfen aus optisch durchlässigem Material sind, die mit seitlichem Spiel teilweise in die Hohlräume ragen.
4. Probenträger nach Anspruch 2, gekennzeichnet dadurch, daß in der Deckfläche des zentralen Körpers Vertiefungen vorgesehen sind, die die Hohlräume mit Abstand umschließen und den Vertiefungen im oberen Abschlußkörper im wesentlichen gegenüberliegen.
5. Probenträger nach einem der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet dadurch, daß der untere Abschlußkörper aus einem optisch durchlässigen, flexiblen Material und einer einem im Bereich der Grundfläche des zentralen Körpers vorhandenen Profil angepaßten Andruckplatte besteht.
6. Probenträger nach einem der Ansprüche 1 bis 5, gekennzeichnet dadurch, daß die Hohlräume als in den zentralen Körper eingelassene Rohre gleicher Länge und kalibrierten Innendurchmessern ausgebildet sind, deren Enden jeweils in gemeinsamen Ebenen liegen, die parallel zur Grund- und Deckfläche sich zumindest in der Nähe der zugeordneten Fläche befinden.
7. Probenträger nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet dadurch, daß der zentrale Körper aus wärmeleitendem Material besteht und weitere miteinander verbundene Hohlräume besitzt, die die Hohlzylinder zumindest teilweise umschließen, die mit mindestens einem durch den zentralen Körper nach außen geführten Kanal versehen sind und die Mittel zur meß- und regelbaren Temperierung ent-

halten.

8. Probenträger nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet dadurch, daß mindestens die Grund- oder die Deckfläche oder eine Querschnittsfläche der zentralen Körper mit einem stromleitenden Material überzogen sind, das die Hohlräume freiläßt.

9. Probenträger nach Anspruch 5, gekennzeichnet dadurch, daß der aus einem optisch durchlässigen, flexiblen Material bestehende Teil des Abschlußkörpers an seiner dem zentralen Körper zugewandten Fläche mit Reaktionspartnern für eine Analyse versehen ist.

Beschreibung

Die Erfindung betrifft einen Probenträger zur diskreten Analyse flüssiger Analysenansätze.

Er ist vorzugsweise einsetzbar für chemische, enzymatische und immunologische Analysen in der biologischen Forschung, der klinischen Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, für analytische Aufgaben, z. B. in der Tier- und Pflanzenzucht, in der Mikrobiologie, der Immunbiologie und der Tropenmedizin.

Der Probenträger wird vorwiegend dort eingesetzt, wo Proben in größerer Stückzahl mit photometrischen Methoden (kolorimetrisch, fluorimetrisch, turbidimetrisch, nephelometrisch) untersucht werden sollen.

Mikrotiterplatten, die aus einem Verbund matrixförmig angeordneter Probenaufnahmebehälter bestehen, haben den Vorteil hoher Praktikabilität hinsichtlich der Probenbeschichtung und der innerhalb der Plattenhöhe frei wählbaren, durch das Volumen des Analysenansatzes gegebenen Schichtdicke.

Sie besitzen jedoch folgende Nachteile:

Durch die unterschiedliche optische Wirkung der an Licht grenzenden freien Oberflächen in den verschiedenen Kavitäten ist kein konstanter optischer Strahlenverlauf gegeben.

Unterschiedliche adhäsive Bindungen des Analysenansatzes an den Gefäßwänden, Volumenfehler und Abweichungen der geometrischen Parameter der Einzelgefäße beeinflussen den Strahlenverlauf des Lichtes im Photometer, die Präzision der Schichtdicke und damit die Qualität der Analysenergebnisse.

Die Anwendungsbreite der Mikrotiterplatte wird so erheblich eingeschränkt.

Probenträger des Mikroküvettentypes, wie sie z. B. in der DD-PS 1 07 783 beschrieben wird, haben demgegenüber den Vorteil der exakt festgelegten Schichtdicke und erlauben photometrische Messungen auch zu sehr geringen Probenmengen mit hoher Präzision.

Ein Nachteil dieser Küvetten besteht darin, daß durch das Fehlen der seitlichen Begrenzung bei den einzelnen Probenplätzen das Aufbringen von detergenthaltigen Lösungen mit niedriger Oberflächenspannung große Sorgfalt erfordert. Außerdem ist die Schichtdicke auf maximal 2–3 mm begrenzt, wodurch für kolorimetrische und turbidimetrische Messungen die Untersuchung von Proben mit geringen Absorptionskoeffizienten eingeschränkt ist.

Beide Küvettenarten haben den gemeinsamen Nachteil, daß sie nur sehr schwer temperierbar und damit für enzymatische Messungen nicht einsetzbar sind.

Ziel der Erfindung ist es, präzise kolorimetrische, fluorimetrische, nephelometrische und turbidimetrische Messungen zur diskreten Analyse einer Vielzahl in einem Analysenblock angeordneter Analysenansätze zu

gewährleisten und den Meßmethoden eine hohe Anwendungsbreite zu geben.

Es ist Aufgabe der Erfindung, einen zugleich als Meßküvette einsetzbaren Probenträger für die Aufnahme flüssiger Proben zu entwickeln, der bei leichter Handhabbarkeit definierte, für die photometrische Analyse vorteilhafte und für alle im Probenträger befindlichen Proben übereinstimmende Schichtdicke gewährleistet, der auch temperierbar und leicht zu reinigen ist.

Die Aufgabe wird durch einen Probenträger zur direkten Analyse flüssiger Analysenansätze in gleichgestalteten, an einem Ende verschlossenen und in definierter Anordnung vorgesehenen Hohlräumen, die zueinander parallel verlaufende Begrenzungsflächen aufweisen, erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß ein die Hohlräume enthaltender zentraler Körper, dessen Grund- und Deckfläche die Begrenzungsflächen der Hohlräume bilden, an der Grundfläche durch einen unteren und an der Deckfläche durch einen oberen Abschlußkörper begrenzt ist, daß in den oberen Abschlußkörper an der dem zentralen Körper zugewendeten Seite Vertiefungen eingearbeitet sind, die in einer gemeinsamen Ebene liegend, aus optisch durchlässigen Material bestehende Flächenbereiche umgrenzen, deren Zahl und Anordnung der der Hohlräume entspricht und die diese zumindest teilweise überdecken, daß der untere Abschlußkörper die Hohlräume verschließende, in einer gemeinsamen Ebene liegende Flächenelemente aufweist, und daß sich die gemeinsamen Ebenen parallel zur Grund- und Deckfläche zumindest in der Nähe der ihnen zugeordneten Flächen befinden.

In Abhängigkeit von der Oberflächenspannung der Analysenansätze sind zwei Ausführungen des oberen Abschlußkörpers vorgesehen.

Bei der ersten berühren die durch die Vertiefungen umgrenzten Bereiche durch Abstandshalter zwischen dem zentralen Körper und dem oberen Abschlußkörper die in den Hohlräumen befindlichen Analysenansätze so, daß diese in dem zwischen dem zentralen Körper und dem oberen Abschlußkörper befindlichen Teil seitlich nur durch Luft begrenzt sind.

Die andere Ausführung zieht Zapfen aus optisch durchlässigem Material als die durch die Vertiefungen umgrenzten Bereiche vor, die mit seitlichem Spiel teilweise in die Hohlräume ragen.

Ist ein Abschlußkörper nach der ersten Variante vorgesehen, ist es vorteilhaft, in der Deckfläche des zentralen Körpers Vertiefungen einzuarbeiten, die die Hohlräume mit Abstand umschließen und den Vertiefungen im oberen Abschlußkörper im wesentlichen gegenüberliegen.

Vorteilhaft für ein leichtes Reinigen ist es, wenn der untere Abschlußkörper aus einem optisch durchlässigen, flexiblen Material und einer dem im Bereich der Grundfläche des zentralen Körpers vorhandenen Profil angepaßten Andruckplatte besteht.

Das flexible Material kann gleichzeitig mit Reaktionspartnern für eine Analyse versehen sein.

In einer weiteren Lösung gemäß der Erfindung sind die Hohlräume als in den zentralen Körper eingelassene Rohre gleicher Länge und kalibrierten Innendurchmessers ausgebildet, deren Enden jeweils in gemeinsam n Ebenen liegen, die parallel zur Grund- und Deckfläche sich zumindest in der Nähe der zugeordneten Fläche befinden.

Zur Temperierung des erfindungsgemäßen Probenträgers besitzt der aus wärmeleitendem Material bestehende zentrale Körper weitere miteinander verbundene

Hohlräume, die die Hohlzylinder zumindest teilweise umschließen, die mit mindestens einem durch den zentralen Körper nach außen geführten Kanal versehen sind und die Mittel zur meß- und regelbaren Temperierung enthalten.

Soll der Probenträger gemäß der Erfindung heizbar sein, sind mindestens die Grund- oder die Deckfläche oder eine Querschnittsfläche des zentralen Körpers mit einem stromleitenden Material zu überziehen, das die Hohlräume freiläßt.

Die Erfindung soll nachstehend anhand der schematischen Zeichnung näher erläutert werden. Es zeigen:

Fig. 1 eine perspektivische Darstellung der Einzelelemente eines Probenträgers gemäß der Erfindung

Fig. 2 einen Probenträger mit oberem Abschlußkörper für Analysensubstanzen mit geringer Oberflächenspannung

Fig. 3 eine Seitenansicht eines temperierbaren zentralen Körpers

Fig. 4 a—d Seitenansichten von Teilen eines Probenträgers, mit in den zentralen Körper eingelassenen Rohren.

Der in Fig. 1 dargestellte Probenträger besteht aus einem quaderförmigen zentralen Körper 1, dem an seiner Grund- und seiner Deckfläche 2, 3 optisch durchlässige Abschlußkörper 4, 5 benachbart sind. In die Deckfläche 3 sind als Nuten 6 ausgebildete Vertiefungen eingearbeitet, die in einer Matrix angeordnete, zylindrische Hohlräume 7 des zentralen Körpers 1 umschließen. Die Grund- und die Deckfläche 2, 3 bilden die Begrenzungsflächen der Hohlräume 7.

Von den den zentralen Körper 1 benachbarten Abschlußkörpern 4, 5 weist der obere als Nuten 8 ausgebildete Vertiefungen auf, die den Nuten 6 im wesentlichen gegenüberliegen und in einer gemeinsamen Ebene liegende Flächenbereiche 9 umgrenzen. Der untere Abschlußkörper 4 ist zum Beispiel lösbar über mechanische oder magnetische Mittel (nicht dargestellt) oder fest am zentralen Körper 1 befestigt.

Zur Analyse werden in die nach unten durch den Körper 4 abgeschlossenen Hohlräume 7 flüssige Analysenansätze mit einer entsprechend angelegten Pipettiereneinrichtung gefüllt, so daß konvexe Flüssigkeitsmenisken die obere Begrenzung der Hohlräume 7 überragen (Die obere Begrenzung der Hohlräume 7 entspricht in Fig. 1 der Deckfläche 3.).

Auf der Deckfläche 3 vorgesehene Abstandshalter 10 sind so ausgelegt, daß beim Auflegen des Abschlußkörpers 5 dieser mit den zwischen seinen Nuten 8 eingeschlossenen Flächenbereichen 9 die Flüssigkeitsmenisken berührt.

Durch die Zonenbegrenzung infolge der Nuten und die kohäsive und adhäsive Wirkung — die Analysenansätze sind im Meniskusteil seitlich durch Luft begrenzt — wird die Flüssigkeit stabil gehalten und ein Verlaufen vermieden. Gleichzeitig besitzen alle sich in den Hohlzylindern befindlichen Flüssigkeitssäulen eine konstante Schichtdicke durch ihren oberen Abschluß.

Der Probenträger wird in ein entsprechend ausgelegtes Photometer eingelegt, wo eine sukzessive oder gleichzeitige Analyse erfolgt. Die Anwendung des Types des oberen Abschlusses gemäß Fig. 1 setzt eine ausreichende Oberflächenspannung der zu untersuchenden Flüssigkeiten voraus.

Ist diese nicht vorhanden, findet die in Fig. 2 dargestellte technische Lösung gemäß der Erfindung Anwendung, bei der die Vertiefung im oberen Abschlußkörper 5 so gestaltet sind, daß Zapfen 11 mit in einer Eben

liegenden Begrenzungsflächen 12 gebildet werden. Die weitere Begrenzung des zentralen Körpers 1 wird durch einen Abschlußkörper gebildet, der aus einer planparallelen Platte 13 und einer Andruckplatte 14 besteht. Zusätzliche Dichtungselemente 15 verhindern ein Auslaufen und ein Vermischen der Analysenansätze.

Diese Lösung des unteren Abschlusses ist auch bei der in Fig. 1 dargestellten Lösung anwendbar.

Durch Eintauchen der Zapfen 11 in die in die Hohlräume 7 eingefüllte Analysensubstanz wird durch den Abstand der Begrenzungsflächen 12 zur Grundfläche 2 die wirksame Schichtdicke der zu photometrierenden Substanz bestimmt. Ein seitliches Spiel der Zapfen 11 zu den Wänden der Hohlräume 7 ermöglicht ein Verdrängen von überschüssiger Substanz.

Die Füllhöhe der Analysensubstanz muß so gewählt werden, daß beim Eintauchen der Zapfen 11 in die Flüssigkeit ein Überlaufen vermieden wird.

Durch die Verwendung von verschiedenen oberen Abschlußkörpern 5 die untereinander Zapfen 11 mit unterschiedlicher Länge aufweisen, können mit dem gleichen zentralen Körper unterschiedliche Schichtdicken realisiert werden.

Der in Fig. 3 dargestellte zentrale Körper 1 weist zur Probentemperierung die Hohlräume 7 zumindest teilweise umschließende weitere Hohlräume 16 auf, die untereinander verbunden sind (nicht dargestellt). Die Hohlräume 16 können für den Durchfluß von Temperierflüssigkeit oder zur Aufnahme von Heiz- und Temperaturmeßeinrichtungen ausgebildet sein. Kanäle 17, 18, die mit den Hohlräumen 16 verbunden sind, dienen als Zu- oder Abfluß oder als Zuleitungsöffnungen für elektrische Leitungen. Eine weitere Möglichkeit zur Temperierung der Probe ergibt sich, indem die Grund- und/oder die Deckfläche bzw. eine oder mehrere Querschnittsflächen mit einem stromleitenden Material überzogen sind, das die Hohlräume freiläßt.

In Fig. 4 a—d sind die Hohlräume 7 als in den zentralen Körper eingelassene Rohre 19 ausgebildet, deren Rohrenden 20, 21 jeweils gemeinsame, nicht dargestellte Ebenen bilden, die parallel zur Grund- und zur Deckfläche 2, 3 liegen. Die gemeinsamen Ebenen fallen entweder mit der Grund- bzw. der Deckfläche 2, 3 zusammen (a) oder sie sind versetzt dazu angeordnet (b—d). Während bei der Lösung gemäß Fig. 4a in der Deckfläche 3, wie bereits in Fig. 1 dargestellt, Nuten 6 eingearbeitet sind, wird eine diesen Nuten 6 entsprechende Wirkung durch die Erhabenheit der Rohrenden 21 gegenüber der Deckfläche 3 (Fig. 3 b—d) erzielt.

Durch die Versetzung der durch die Rohrenden 20 gebildeten Ebene gegenüber der Grundfläche 2 wird eine Profilbildung erreicht, die es gestattet, einen unteren Abschlußkörper einzusetzen, der aus einem als Folie 22 ausgebildeten optisch durchlässigen, flexiblen Material und einer dem Profil angepaßten Andruckplatte 23 zusammengesetzt ist. Die Folie 22 wird durch die Andruckplatte 23, die Rohre 19 abdichtend, an das Profil des Grundkörpers 1 angelegt, wobei die Andruckplatte 23 mechanisch oder magnetisch befestigt wird.

Diese Lösung gestattet ein einfaches Reinigen des Probenkörpers durch Entfernen der Folie 22 und durch Einsatz einer neuen. Im Bedarfsfall ist es möglich, die Folie 22 an der dem zentralen Körper zugewandten Fläche, mindestens an den die Rohre 19 verschließenden Flächenteilen, mit Reaktionspartnern für eine Analyse zu versehen.

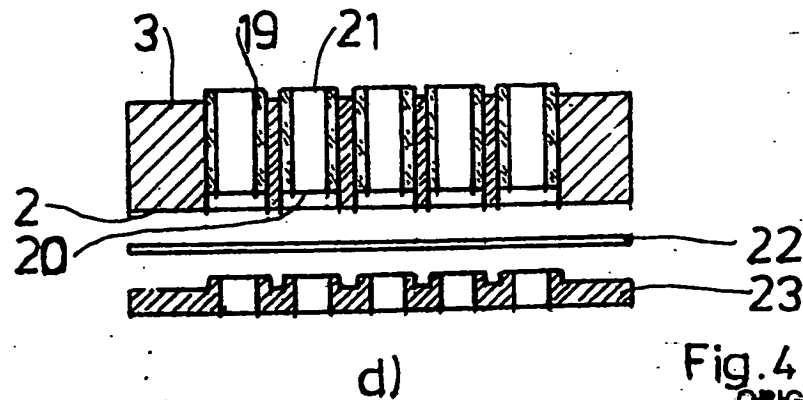
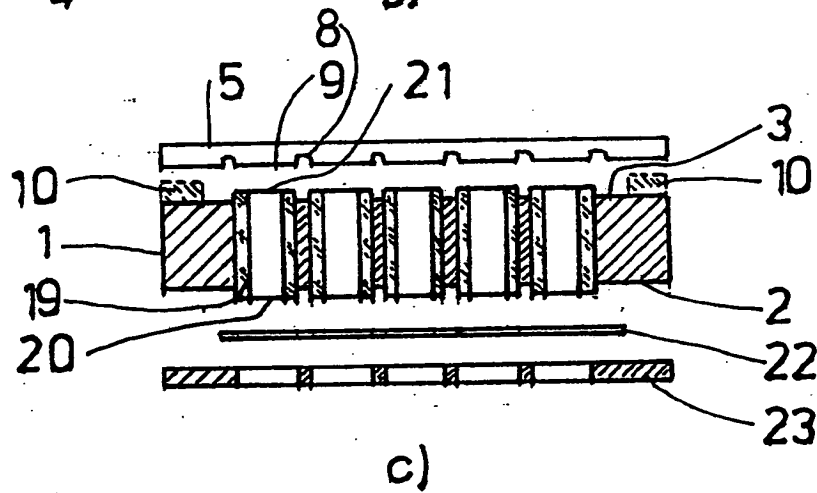
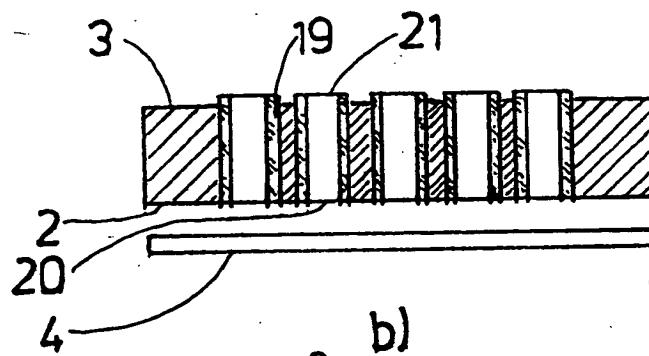
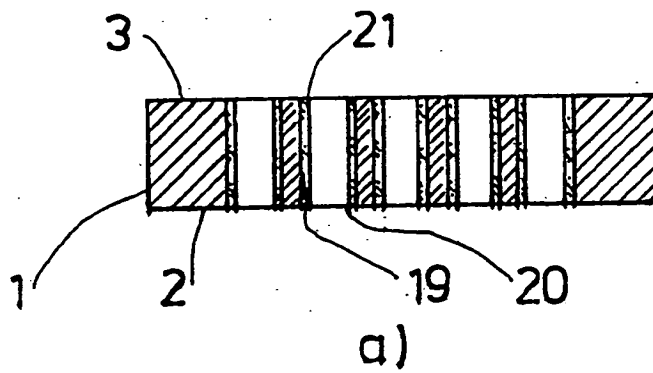


Fig. 4

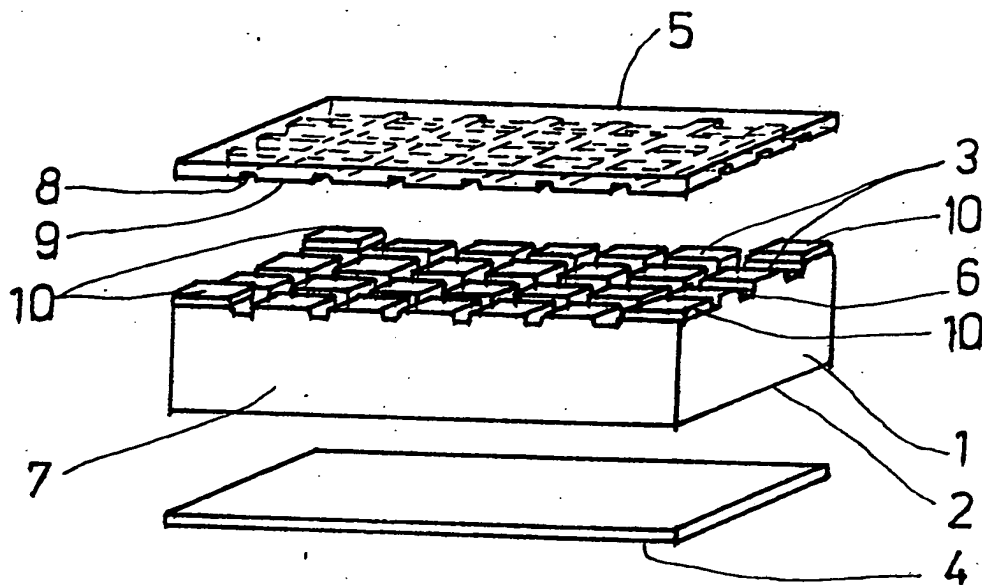


Fig. 1

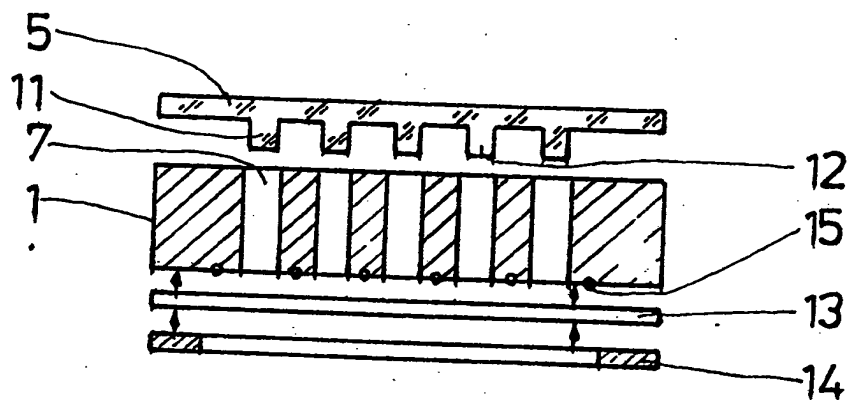


Fig. 2

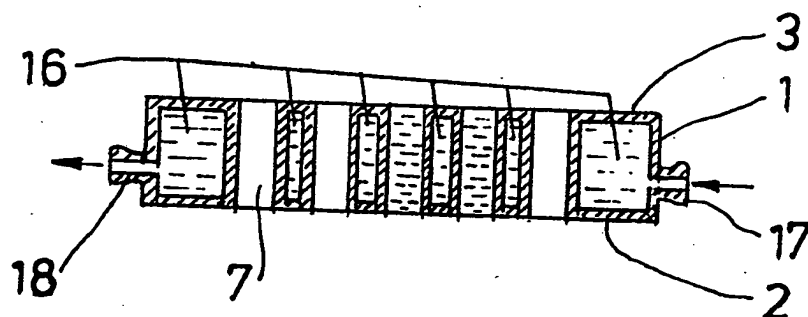


Fig. 3